

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 200326031

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**PRRS 病毒 GP5 的基因序列分析及其重组  
蛋白的应用研究**

Sequence Analysis on the GP5 of PRRSV and the Study on the  
Application of its Recombinant Protein

作 者 姓 名: 郭 川

指导教师姓名: 郑忠辉 教授

曹敏杰 教授

专 业 名 称: 微生物学

论文提交日期: 2006 年 6 月

论文答辩时间: 2006 年 7 月

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

200 年 月

# 厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（ ），在      年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期：      年    月    日

导师签名：

日期：      年    月    日

## 目录

中文摘要	1
英文摘要	3
1 前言	5
1.1 PRRSV 的病原学特点	5
1.2 基因组特点	6
1.3 非结构蛋白的特点	7
1.4 结构蛋白特点	7
1.4.1 GP2	8
1.4.2 GP3	8
1.4.3 GP4	8
1.4.4 GP5	9
1.4.5 M 蛋白	9
1.4.6 N 蛋白	10
1.5 病毒基因组及结构蛋白的变异	10
1.5.1 5'UTR 的变异	11
1.5.2 非结构蛋白编码区的变异	11
1.5.3 结构蛋白编码区的变异	12
1.6 PRRSV 的致病及免疫	12
1.6.1 PRRSV 的致病特点	12
1.6.2 PRRSV 诱导的细胞免疫及体液免疫	13
1.6.3 抗体依赖性增强作用	14
1.7 PRRS 的预防及控制	15
1.7.1 PRRSV 的检测方法	15
1.7.2 PRRSV 疫苗	18
1.8 本研究的目的、内容及意义	20
2 材料与方法	21
2.1 材料	21
2.2 试剂	21

2.3 实验所用溶液及其配制-----	22
2.4 试验所用仪器-----	25
2.5 试验方法-----	26
2.5.1 基因克隆及序列分析-----	26
2.5.2 GP5 的原核表达及纯化-----	28
2.5.3 重组蛋白的抗原性应用研究-----	33
3 结果与分析-----	37
3.1 基因克隆、序列测定与分析-----	37
3.1.1 目的基因的克隆与鉴定-----	37
3.1.2 重组质粒的 PCR 鉴定-----	37
3.1.3 ORF-5 的序列测定与分析-----	38
3.2 GP5 的原核表达与纯化-----	42
3.2.1 表达质粒的构建与鉴定-----	42
3.2.2 tGP5 的诱导表达-----	45
3.3 重组 GP5 的抗原性应用研究-----	49
3.3.1 GST-tGP5 与 PRRSV 阳性猪血清的反应-----	49
3.3.2 血清中针对 GP5 抗体 ELISA 检测体系的初步建立-----	49
3.3.3 抗 GP5 多克隆抗血清的制备,纯化及其滴度测定-----	55
4 讨论-----	57
4.1 RT-PCR 扩增 ORF5 及其在临床组织样品检测上应用探讨-----	57
4.2 ORF-5 的遗传变异分析-----	58
4.3 GP5 的原核表达及其纯化-----	60
4.4 GP5 的抗原性在 PRRS 疫苗免疫后监控中的应用-----	61
结论-----	63
参考文献-----	65
致谢-----	74

## Index

<b>Abstract (Chinese)</b>	<b>1</b>
<b>Abstract (English)</b>	<b>3</b>
<b>1 Preface</b>	<b>5</b>
1.1 Pathogenic Characters of PRRSV	5
1.2 Genomic Characters	6
1.3 Characters of nonstructural proteins	7
1.4 Characters of structural proteins	7
1.4.1 GP2	8
1.4.2 GP3	8
1.4.3 GP4	8
1.4.4 GP5	9
1.4.5 M protein	9
1.4.6 N protein	10
1.5 Mutation of the viral genome and structural proteins	10
1.5.1 Mutation of 5' UTR	11
1.5.2 Mutation of nonstructural protein encoding region	11
1.5.3 Mutation of structural protein encoding region	12
1.6 Nosogenesis and immunology	12
1.6.1 Characters of Nosogenesis	12
1.6.2 Cellular and humoral immunity induced by PRRSV	13
1.6.3 Antibody dependant enhancement	14
1.7 Prevention and controls	15
1.7.1 Means for PRRSV detection	15
1.7.2 PRRSV vaccines	18
1.8 Aim of the present study	20
<b>2 Material and methods</b>	<b>21</b>
2.1 Material	21
2.2 Reagents	21
2.3 Preparation of the reagent used in study	22
2.4 Equipment	25

<b>2.5 Methods for study</b>	<b>26</b>
2.5.1 Gene cloning and sequence analysis	26
2.5.2 Prokaryotic expression and purification of GP5	28
2.5.3 Study on the use of rGP5 as antigen	33
<b>3 Results</b>	<b>37</b>
<b>3.1 Gene cloning, sequencing and analysis</b>	<b>37</b>
3.1.1 Cloning & identification of the interesting gene	37
3.1.2 PCR identification of recombinant	37
3.1.3 DNA sequencing and analysis of ORF-5	38
<b>3.2 Prokaryotic expression and purification of GP5</b>	<b>42</b>
3.2.1 Construction and identification of the recombinant expression plasmid	42
3.2.2 Expression of the tGP5	45
<b>3.3 Study on the use of rGP5 as antigen</b>	<b>49</b>
3.3.1 The reaction of GST-tGP5 with PRRSV positive serum	49
3.3.2 Establishment of the ELISA system to detect the GP5 antibody in serum	49
3.3.3 Preparation, purification of the anti GP5 serum and the assay of its titer	55
<b>4 Discussion</b>	<b>57</b>
<b>4.1 Amplification of ORF5 gene by RT-PCR and its application on the sample detection</b>	<b>57</b>
<b>4.2 Analysis on the homology and variation of ORF5</b>	<b>58</b>
<b>4.3 Prokaryotic expression and purification of GP5</b>	<b>60</b>
<b>4.4 Antigenic characters of GP5 &amp; its use in antibody detection</b>	<b>61</b>
<b>Conclusion</b>	<b>63</b>
<b>Reference</b>	<b>65</b>
<b>Acknowledge</b>	<b>74</b>

## 摘 要

猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)是以母猪流产及仔猪呼吸系统障碍为主要病征的传染病,病原为猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)。该病毒传染性强,而且感染机体后导致免疫抑制及各种并发症,给养猪业造成巨大危害和经济损失。病毒基因的变异也给防治增加了难度。糖基化囊膜蛋白 5(GP5)是 PRRSV 的主要结构蛋白,具有结合细胞受体及诱导细胞凋亡等功能;而且该蛋白能诱导中和抗体产生,是新型疫苗设计的主要靶蛋白,因此在病毒的生理功能及 PRRS 的防治上具有重要作用。

本研究对闽南地区流行的 PRRSV 毒株 FJ-1 的 GP5 编码基因 ORF-5 进行分子克隆,并对其核酸序列进行测定及分析,为该病的流行病学调查提供理论依据;同时,利用大肠杆菌在体外表达了 GP5,并对重组蛋白的抗原特性进行研究;针对有些 PRRSV 疫苗未能对猪机体提供完全保护的情况,本研究还建立了一个间接 ELISA 体系来对疫苗免疫后的猪血清中的抗 GP5 抗体水平进行检测,来间接反应机体产生中和性抗体的水平,为针对该病的新型疫苗以及评价疫苗免疫效果的试剂盒的研制奠定基础。

从福建省某种猪场采得患病猪肺病料,提取猪肺组织的总 RNA 并利用 RT-PCR 技术扩增出编码 GP5 的 ORF5 基因。目的 DNA 片段连接到 pUcm-T 载体上进行 DNA 序列测定。结果发现福建毒株 FJ-1 ORF5 基因大小为 603bp,编码 200 个氨基酸残基,与美洲型参考毒株 VR-2332、Ch-1a 及欧洲型参考毒株 LV 的氨基酸同源性分别为 87%、89%和 53%,因此推定 FJ-1 属于美洲型毒株。根据已分离的 PRRSV 毒株 ORF5 基因构建了系统发育进化树,从中可发现福建毒株 FJ-1 与其他美洲型毒株的同源性较低。

设计引物从重组质粒 pUcm-T-ORF5 中扩增出缺失了 N 端 30 个氨基酸残基的 tGP5 编码序列 tORF5,并在 C 末端带上 6 联组氨酸(6×His)标签编码序列,目的基因亚克隆构建成重组表达质粒 pGEX-4T-tORF5,转化大肠杆菌后诱导表达。表达产物经过 SDS-PAGE 及 Western-blot 分析,证实为 tGP5 与谷胱甘肽转移酶 (Glutathione S-transferase, GST) 的融合表达蛋白,分子量为 41kDa,表达量占菌体总蛋白的 15%,主要以包涵体形式存在。经过 Ni 离子树脂亲和层析纯



化后的 GST-tGP5 蛋白纯度可达 95% 以上，并能与 PRRSV 阳性猪血清产生特异性反应，而标签蛋白 GST 不与该血清反应。将纯化后的表达蛋白包被 ELISA 板后对标准阴/阳性血清进行检测，结果在抗原包被浓度为 1640 ng/孔，血清稀释度为 10 倍稀释的条件下 P/N 值最大。用此试验条件对 12 份 PRRSV 阴性血清进行 ELISA 检测后推导出以 S/P 值 0.6 作为阳性血清判定的临界点。S/P 值大于 0.6 的血清判断为阳性血清，反之小于 0.6 的为可疑或阴性。此检测体系的结果与 Dot-blot 所测定的结果一致性达 92.5%。以纯化后的融合蛋白作为抗原免疫小鼠，制备出的抗 GST-tGP5 融合蛋白血清经 GST 吸附扣除抗 GST 干扰抗体后，得到跟 tGP5 特异性反应的多克隆抗血清，其滴度约为 6400。但该抗血清是否能在体外甚至体内试验中对病毒的感染起中和作用还有待进一步研究。

关键词：PRRSV; GP5; 重组蛋白

## Abstract

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) was the pathogen of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) represented by abortion of sows and respiratory obstacle of piglets. For its infectiousness as well as the immune repression and intercurrent brought to pigs, PRRSV caused huge economic loss to pig's feeding industry. Moreover, the mutants of PRRSV genes increase the difficulty to control the illness. Glycoprotein 5 (GP5) is the primary structural protein of PRRSV. It shows the function of combining the virus to the receptor on the host cell as well as inducing the apoptosis of the cell and novel vaccine was designed according to its ability to induce the neutralization antibody. So GP5 provides the virus with important physiological functions and shows great value on the control of PRRS.

The GP5 encoding gene ORF5 of FJ-1 strain which came from south Fujian was cloned and sequence-analysed in the present study, which provided the data for the research on epidemic of PRRS. The *E.coli* expressed GP5 was also acquired and its antigenic character was investigated; Meanwhile, because some kinds of vaccine failed to protect the piglets from infection, an indirect ELISA system for PRRSV GP5 antibody detection was established to evaluate the level of neutralization antibody in serum. And such study paved way for developing the kit to evaluate the effect of PRRS vaccine.

Total RNA was extracted from the lung tissue of pig infected by the PRRSV and cDNA was synthesized by RT-PCR. A pair of primers were designed to amplify the ORF5 gene of PRRSV strain FJ-1 from the cDNA. The DNA of ORF5 was subsequently cloned into the pUcm-T vector and subjected to sequencing. The result of DNA sequence analysis showed that ORF5 consisted of 603 bp nucleotides and encoded the protein containing 200 amino acid residues. The ORF-5 gene of FJ-1 strain showed homology of 87% and 89% to the American type strains of VR-2332 and Ch-1a respectively. However, it shared only 53% in common with the nucleotides of strain LV of European type. As a result, FJ-1 was proposed to belong to the strain

of American type. A phylogenetic tree was constructed to show the relationship of the PRRSV strains focusing on the sequence of their ORF5s.

On the other hand, another pair of primers were designed to amplified tORF5 DNA encoding the truncated GP5 (tGP5) which lacked 30 amino acid residues at its N terminal and contained 6×His tag at the C terminal using the recombinant plasmid pUcm-T-ORF5 as the template. The resulting tORF5 DNA was inserted into the multiple cloning sites of pGEX-4T-3 plasmid. After the recombinant expression vector pGEX-4T-tORF5 had been transformed into the *E.coli* BL21 and induced with IPTG, truncated GP5(tGP5) was expressed in the form of inclusion body, and showed the molecular weight of about 41kDa as confirmed by SDS-PAGE and Western-blot probed by anti GST and anti 6×His antibody. The recombinant protein contributed to about 15% of the total bacterial protein, and after being purified using the Ni<sup>2+</sup> affinity column chromatography, its purity reached 95%. Purified GST-tGP5 showed specific reaction with the PRRSV positive serum while the GST tag failed to react with. Purified protein was used as the antigen to detect the anti PRRSV GP5 antibody in the serum by means of ELISA. Checkerboard titration was performed to deduce the optimal experimental condition of ELISA, and when it was coated at 1640 ng per well and the serum was 10 folds diluted, the P/N ratio reached the highest level. PRRSV negative serum from 12 samples was tested under the determined ELISA condition and the average S/P ratio was evaluated. The value of 0.6 was proposed as the critical point for distinguishing negative and positive serum. S/P ratio higher than 0.6 suggests that the serum is GP5 antibody positive, while below 0.6 means negative. The result of such detection system showed 92.5% consistence with the result of Dot-blot detection. Purified GST-tGP5 was also used to immunise mice for anti GP5 serum preparation. After purification, the anti serum showed the titer of approximately 6400. However, further study is needed to identify if the anti serum can neutralize the PRRSV and prevent its infection to piglets.

Key word: PRRSV; GP5; recombinant protein

# 1 前 言

1987年,在美国的北卡罗那、伊阿华、明尼苏达等州的猪群首次暴发一种以母猪早产、流产、产死胎、弱仔和木乃伊胎、仔猪和肥育猪呼吸道疾病为主要症状的传染病<sup>[1]</sup>。随后该病蔓延到欧洲。当时由于不知道其病因,因此称其为神秘病(在英国称蓝耳病)。1992年在美国明尼苏达州召开此病的首届国际会议将此病统一命名为猪殖与呼吸障碍综合征(Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)。目前,该病已在全球范围内传播,亚太地区也呈蔓延之势,日本、韩国、菲律宾及我国台湾等均有疫情报道,我国于1995年首次发现该病<sup>[2]</sup>。由于该病传播速度快,传染性强,因此被世界动物卫生组织(OIE)列为B类传染病,但其危害不亚于A类传染病对养猪业的危害,全世界几乎已很难找到没有PRRS的国家。PRRS与猪瘟及口蹄疫成为当今全球养猪业的“三大传染病”。

该病的主要病原猪繁殖与呼吸综合症病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)于1991年由荷兰中央兽医研究所从自然感染和实验感染PRRSV猪中,用猪肺泡巨噬细胞(SAM)培养首次分离到<sup>[3]</sup>,当时称为Lelystad病毒(LV)。随后德国,美国,英国等国也陆续分离到该病毒,病毒形态如图1-1所示。

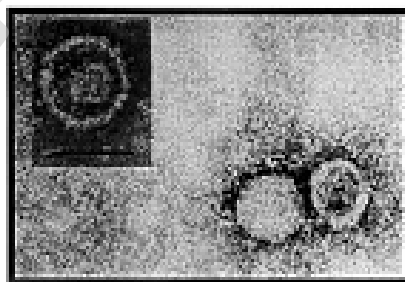


图 1-1 PRRSV 的电镜照片  
Fig. 1-1 Picture of PRRSV under  
electron microscopy

## 1.1 PRRSV 的病原学特点

PRRSV属于动脉炎病毒科(Arteriviridae)。目前已确定它是一种单股正链RNA病毒,呈二十面体对称。病毒颗粒直径45~55nm,其核衣壳直径30~50nm。在蔗

糖中的浮力密度为1.14g/mL, CsCl中为1.19g/mL<sup>[4]</sup>。有囊膜, 对乙醚、氯仿等脂溶剂敏感。病毒在低温下能保持其稳定的感染性, 但不耐热, 56℃, 45min病毒彻底灭活, 在37℃及4℃下分别存活48h和一个月。在非中性pH环境中感染性损失90%以上<sup>[5]</sup>。病毒无血凝性, 通常不能凝集猪、山羊、绵羊、牛、兔、豚鼠、人O型以及鸡、鸭、鹅的红细胞。特别嗜好在猪原代肺泡巨噬细胞 (porcine alveolar macrophages, PAM) 中生长, 也可用猴肾传代细胞CL2621、MA104的克隆株MARC145及MARC145的克隆株HS2H培养<sup>[6]</sup>。

## 1.2 基因组特点

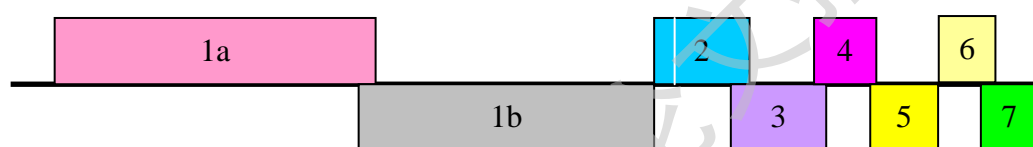


图 1-2 PRRSV 基因开放阅读框结构示意图  
Fig.1-2 The ORFs of the genes of PRRSV

如图1-2: PRRSV基因组全长15kb, 含有8个开放阅读框 (Open Reading Frames, ORFs)。ORF1a和ORF1b组成ORF1, 位于基因组的5'端, 编码病毒的非结构蛋白 (None Structural Protein, NSP), 如病毒的RNA聚合酶等, 翻译产物为多聚蛋白, 可通过自身的水解过程分解为多个NSP<sup>[7]</sup>。ORF1共长12kb, 占病毒基因组长度的80%, 上游是长约189个核苷酸的5'端非编码区。Meulenberg等<sup>[8]</sup>对Lelystad毒株进行了克隆测序, 结果表明基因组5'端存在一个功能尚不清楚的帽子结构。ORF1a和ORF1b重叠16个核苷酸, 在重叠区序列中有庚核苷酸结构和拟节结构, 这两种结构均是在翻译合成病毒RNA聚合酶过程中, 为改变阅读框而实现核糖体移码所必须的<sup>[9]</sup>。ORF2~ORF7编码病毒的结构蛋白, ORF2~5的表达产物分别为糖基化囊膜蛋白 (Glycoprotein, GP) 2~5, ORF6和ORF7分别编码膜基质蛋白 (Matrix protein, M) 和核衣壳蛋白 (Nucleocapsid protein, N)<sup>[10]</sup>。最近有报道<sup>[11]</sup>指出ORF2中可分出一个独立的编码区ORF2b, 编码一个分子量10kDa, 含73个氨基酸的非糖基化蛋白, 因此也可以将PRRSV基因组分成9个ORFs。编码ORF7的终止密

码子之后为114个核苷酸的非编码区和约20个核苷酸的多聚腺苷酸尾( PolyA) 。据推测, 3' 端非编码区可能是病毒复制过程中负链RNA开始合成时多聚酶结合的区域<sup>[9]</sup>。

Meng等<sup>[12]</sup>指出PRRSV在翻译过程中会形成与各个ORF对应的mRNA亚基因组的结构从而形成7个长度由ORF1~ORF7递减, 并且具有共同3' 末端的亚基因组mRNA, 再翻译成蛋白质, 如图1-3。

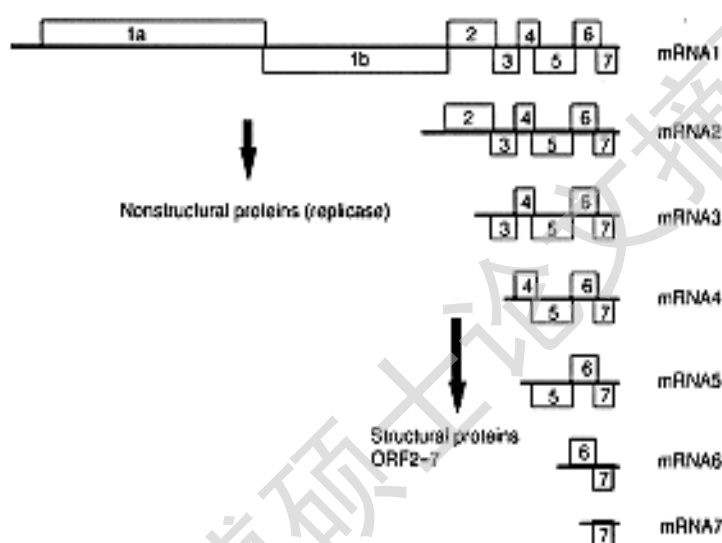


图 1-3 PRRSV 的亚基因组结构 RNA 示意图

Fig.1-3 The subgenome RNA of PRRSV

### 1.3 非结构蛋白的特点

病毒的非结构蛋白由ORF1(分1a和1b)编码。通过序列比较推测ORF1编码的是一个多聚蛋白, 可水解为13个非结构蛋白: Nsp1 $\alpha$ 、Nsp1 $\beta$ 、Nsp2~12<sup>[13]</sup>。其中Nsp1 $\alpha$ 、Nsp1 $\beta$ 、Nsp2~6由ORF1a编码, Nsp7~12由ORF1b编码。有报道证实Nsp1 $\alpha$ 和Nsp1 $\beta$ 可从多聚蛋白上自动切割下来<sup>[14]</sup>。ORF1b编码的寡聚蛋白可由ORF1a编码的蛋白酶所切割而得到, 并形成RdRp, CP2, CP3和CP4<sup>[15]</sup>。

## 1.4 结构蛋白特点

PRRSV所具有的结构蛋白如图1-4所示，其中衣壳粒由核衣壳蛋白N与基因组RNA组成，外面包被着脂双层结构的包膜，包膜上嵌有GP2~GP5，M等一系列膜蛋白。

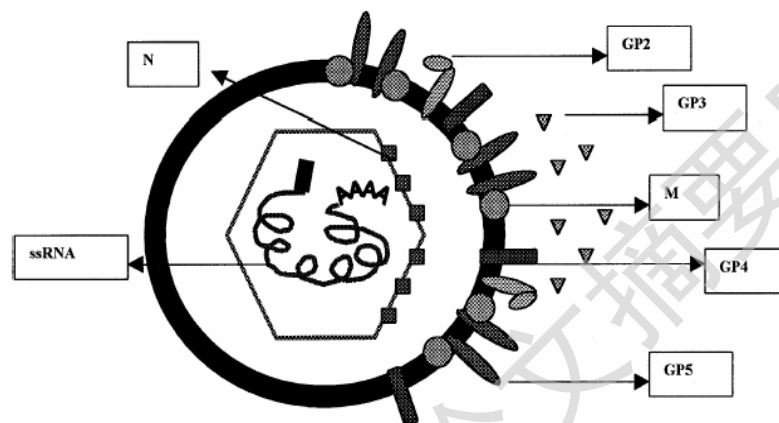


图 1-4 PRRSV 及其结构蛋白分布示意图

Fig.1-4 PRRSV and the location of its structural proteins.

### 1.4.1 GP2

GP2由ORF2编码，分子量为29~30kDa，有两个明显的疏水峰和糖基化位点。Meulenberg等通过免疫印迹和免疫沉淀试验，证明LV 株的GP2为N-糖基化蛋白质，而且能整合入病毒粒子中<sup>[16]</sup>。Oleksiewicz等<sup>[17]</sup>发现GP2中有位点跟病毒的毒力相关，但能否就此断定该区为GP2毒力功能区尚需进一步证实。

### 1.4.2 GP3

ORF3编码的GP3分子量45~50kDa，为高度糖基化的结构蛋白，具有7个糖基化位点<sup>[8]</sup>。其C末端为高变区，通过氨基酸序列比较，两种基因型（美洲型与欧洲型）的GP3氨基酸序列同源性为55%。Weiland<sup>[18]</sup>等发现，一种抗PRRSV GP3单克隆抗体与正常猪细胞的高尔基体发生交叉反应，说明正常猪细胞高尔基体上存在与PRRSV GP3抗原结构相类似的区域，因而推测自身免疫反应可能对PRRSV感染机体起一定作用。

### 1.4.3 GP4

ORF4编码的糖基化囊膜蛋白（GP4）是分子量为31~35kDa的结构蛋白，具有

4个糖基化位点。其N-端和C-端具有高度疏水区。GP4第40~79位氨基酸为病毒中和抗原决定簇，单抗具有中和作用<sup>[19]</sup>。

#### 1.4.4 GP5

糖基化囊膜蛋白GP5又名E蛋白，由ORF5编码，含有4个N-糖基化位点<sup>[20]</sup>，分子量24.5~26kDa，去糖基化后分子量约22.4kDa。该蛋白呈很强的疏水性，含有多个疏水区：包括一个信号肽序列（第1~31个氨基酸）及2个跨膜区域（第65~130号氨基酸及第170~190号氨基酸），可能与蛋白在膜上的锚定作用有关<sup>[21, 22]</sup>。GP5的信号肽是毒株之间遗传性同源性较低的区域，该区的C末端含有一个信号肽切割位点（第32~33号氨基酸）<sup>[20]</sup>。研究发现抗GP5抗体的效价跟血清对病毒的中和作用呈正相关<sup>[23]</sup>。GP5该蛋白含有6个抗原决定簇，其中决定簇B（第37~44位氨基酸残基团）是主要的中和表位，与其结合的单克隆抗体能在体外中和病毒的感染。而位于信号肽区的决定簇A则主要诱导抗体滴度较高的非中和性抗体，并使中和性抗体推迟产生<sup>[24, 25]</sup>。因此，PRRSV新型疫苗设计时常以ORF5作为候选基因，或以GP5作为候选蛋白。如用含编码GP5的质粒DNA免疫机体，可使接种猪产生抗GP5的特异性中和抗体<sup>[26]</sup>；GP5经常与膜基质蛋白M形成异源二聚体，PRRSV是以此种形式存在的GP5-M蛋白复合物结合到敏感宿主细胞膜上的PRRSV受体<sup>[27]</sup>，进而侵入细胞。GP5还能诱导细胞凋亡——体外构建的表达GP5的细胞具有典型的细胞凋亡现象，如基因组DNA梯度片断化，细胞数目减少、凋亡小体形成等<sup>[28]</sup>。推测GP5诱导的细胞凋亡所形成的凋亡小体可能具有避免让细胞裂解后未成熟的病毒颗粒直接暴露于体液环境中，进而躲避了宿主免疫系统攻击的作用。因此GP5在PRRSV的侵入、吸附等一系列与增殖相关的生理活动中起着重要的作用。

#### 1.4.5 M蛋白

膜基质蛋白M是由ORF6编码的一个疏水性蛋白，分子量18~19kDa。虽然含有一个糖基化位点，但由于在去糖基化试剂作用后其分子量大小并未改变，所以推定该蛋白不带有糖链，实际为非糖基化蛋白<sup>[29]</sup>。许多研究表明，该蛋白与GP5



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库